

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
26. April 2001 (26.04.2001)

PCT

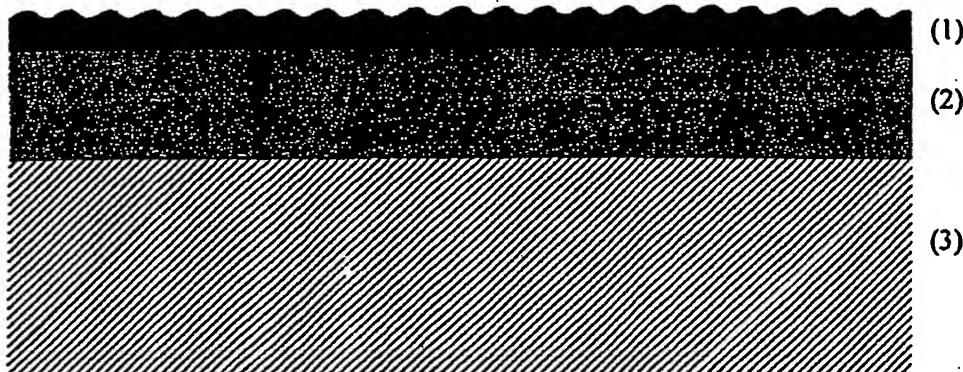
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/28605 A1

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61L 31/08, 31/10, 33/00, 33/02, 31/12
- (71) Anmelder und
(72) Erfinder: LAZAROV, Miladin [DE/DE]; Winzer-
erstrasse 138, 80797 München (DE). MAYER, Isabella
[DE/DE]; Winzererstrasse 138, 80797 München (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/10262
- (74) Anwalt: DOST, Wolfgang; Bardhele, Pagenberg, Dost,
Altenburg, Geissler, Isenbruck, Galileiplatz 1, 81679
München (DE).
- (22) Internationales Anmeldedatum:
18. Oktober 2000 (18.10.2000)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AL, AU, BR, CA,
CN, CZ, ID, IL, IN, JP, KP, KR, LT, LV, MA, MK, MX,
NO, NZ, PL, RO, SI, TR, US, VN, ZA.
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
- (30) Angaben zur Priorität:
199 50 386.9 19. Oktober 1999 (19.10.1999) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: BIOCOMPATIBLE COATED IMPLANT

(54) Bezeichnung: BIOKOMPATIBLES BESCHICHTETES IMPLANT



(57) Abstract: The invention relates to an object, especially an implant, comprising a substrate which is at least partially coated with at least one layer and on which a substance containing protein, peptide and/or saccharide is at least partially deposited. The layer directly adjacent to the substance contains at least one metal selected among titanium, zirconium and hafnium or contains a compound thereof having one or more non-metals and/or semiconductors, or an alloy thereof with one or more other metals, and said layer is deposited using a vacuum coating method. The invention also relates to a method for producing the object, during which the layer is deposited on the substrate under vacuum, and relates to the use of said object.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft einen Gegenstand, insbesondere ein Implantat, umfassend ein Substrat, das wenigstens teilweise mit mindestens einer Schicht überzogen ist und darauf wenigstens teilweise eine Protein-, Peptid- und/oder Saccharid-haltige Substanz abgelagert ist, wobei die an die Substanz direkt angrenzende Schicht wenigstens ein Metall ausgewählt aus Titan, Zirkonium und Hafnium, oder eine Verbindung davon mit einem oder mehreren Nichtmetallen und/oder Halbleitern, oder eine Legierung davon mit einem oder mehreren anderen Metallen enthält und mittels eines Vakuum-Beschichtungsverfahrens aufgebracht worden ist. Daneben ist ein Verfahren zur Herstellung des Gegenstands, bei dem unter Vakuum die Schicht auf das Substrat aufgebracht wird, sowie die Verwendung des Gegenstands vorgesehen.

WO 01/28605 A1



europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist: Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen.

Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

5

BIOKOMPATIBLES BESCHICHTETES IMPLANT

Die Erfindung betrifft einen, insbesondere biokompatiblen, Gegenstand, insbesondere ein Implantat, wie einen Stent, ein Verfahren zu seiner Herstellung sowie seine Verwendung.

Die moderne biomedizinische Wissenschaft zeichnet sich dadurch aus, daß natürliche organische Flüssigkeiten und Gewebe mit künstlichen Gegenständen in Kontakt gebracht werden, um definierte physiologische Abläufe zu imitieren oder zu beeinflussen. Beispiele sind u.a. der Einsatz von Implantaten, extrakorporal genutzten medizinischen Geräten oder die *in vitro* Züchtung bestimmter Zellkulturen in einer künstlichen Umgebung.

Dabei gilt der Grundsatz, je höher die Verträglichkeit zwischen der natürlichen und der künstlichen Substanz ist, desto besser ist das Ergebnis. Biokompatibilität bezieht sich somit auf den spezifischen Einsatz eines technisch definierten Materials in einer physiologisch definierten Umgebung mit dem Ziel, spezifische physiologische Funktionen zu unterstützen oder zu ersetzen. So wäre z.B. die ideale Oberfläche einer orthopädischen Prothese so zu gestalten, daß ein möglichst rasches Einwachsen im Knochen möglich ist, dabei soll jedoch gleichzeitig ein niedriges Infektionsrisiko bestehen. Die biologische Verträglichkeit eines Stents für Koronararterien wäre dann optimal, wenn er keine oder nur eine geringe Thrombogenität hat und die Funktion der Zellen in der direkten Umgebung, z.B. der Endothelialzellen gar nicht oder geringst möglich beeinflusst wird, insbesondere sollte die Proliferation der Zellen der sogenannten Intimaschicht der Gefäßwand vermieden werden.

Eine weitere Errungenschaft in der modernen Medizin ist die zeitweise Substitution von Organen oder deren Funktionen durch medizinische Geräte z.B. Hämodialyse, Herzbypass oder extrakorporale Membranoxygenation (ECMO). Auch hier besteht eine direkte Beziehung zwischen Biokompatibilität und der Inzidenz von zum Teil lebensbedrohlichen Komplikationen, wie Hämolyse oder hämorrhagische Komplikationen als Folge einer iatrogen induzierten Gerinnungshemmung.

In den vergangenen Jahren gab es viele Ansätze, um die beschriebenen Probleme, zumindest teilweise zu lösen. So versuchte die Arbeitsgruppe um Dunn et al. 1994 (Ciprofloxacin Attachment to Porous-Coated Titanium Surfaces, D.S. Dunn, S. Raghavan, R.G. Volz, Journal of applied Biomaterials, Vol. 5, 325-331, 1994) eine Titanoberfläche zu modifizieren, um darauf das Antibiotikum Ciprofloxacin abzuscheiden.

Insbesondere Engstellen von Herzkranzgefäßen werden heute in zunehmendem Maße durch die Implantation von Stents behandelt. Diese Stents bestehen aus medizinischem Edelstahl, Tantal, Nitinol oder Titan (siehe DE-A-195 33 682, DE-A-196 53 708, Characteristics of metals used in implants, I. Gotman, J. Endourol., 11(6):383-389; und US-A-5,356,433). Bei ihrer Verwendung können jedoch zwei gravierende Komplikationen auftreten. Zum einen wird durch das Metall die Blutgerinnung aktiviert. Das kann besonders innerhalb der ersten vier Tage nach Implantation zum Verschuß des Stents durch eine Thrombose führen. Das zweite Problem beim Einsatz von Koronarstents ist die Restenose durch Intimahyperplasie. Das Herzkranzgefäß ist aus den drei Gewebsschichten Intima, Media und Adventitia aufgebaut. Die Intima besteht aus Endothelzellen, die das Gefäßlumen auskleiden und direkt mit dem Blutstrom in Kontakt stehen. Sie wird von der sog. Lamina fibrosa interna von der Media abgegrenzt, welche aus glatten Muskelzellen besteht. Die Außenschicht, Adventitia, bildet dann die Verbindung zwischen Gefäß und umgebendem Gewebe. Histologische Untersuchungen zeigen, daß es beim Einbringen von Stents zu einer Läsion der Endothelschicht der Intima und

insbesondere der Lamina fibrosa interna kommt. Der Körper reagiert auf diese Irritation mit einer Wucherung von Intimazellen, der sogenannten Intimahyperplasie, die so stark sein kann, daß es zum erneuten Verschluß des Gefäßlumens innerhalb des Stents kommt.

5

Technisch wurde versucht durch verschiedene Stentbeschichtungen die Thrombosenneigung und/oder die Intimahyperplasie zu vermindern. So offenbart EP-A- 0 836 839 eine Goldschicht auf einem Stent. In Antithrombogenic Coating of Stents Using a Biodegradable Drug Delivery Technology, R. Herrmann, G. Schmidmaier, B. Märkl, A. Resch, I. Hähnel, A. Stemberger, E. Alt; Thromb Haemost, 82,51-57, 1999 werden Stents mit Stahl- oder Goldoberflächen offenbart, die mit biodegradierbarer Polymilchsäure überzogen werden. Der Artikel Local drug delivery of argatroban from a polymeric-metallic composite stent reduces platelet deposition in a swine coronary model, K.R. Kruse, J.J. Crowley, J.F. Tanguay, R.M. Santos, D.S. Millare, H.R. Phillips, J.P. Zidar, R.S. Stack, Catheter Cardio-
15 vasc Interv., 46(4), 503-7, 1999 betrifft einen Polymer-Metall-Stent, der mit Argatroban versehen ist. Neben dem gerinnungshemmenden Medikament Heparin (DE-A-195 33 682) wurden das antiproliferative Mittel Taxol und die antiinflammatorische Substanz Dexamethason auf Stents aufgebracht, vgl. Antiproliferative
20 stent coatings: Taxol and related compounds, C. Herdeg, M. Oberhoff, K.R. Karsch, Semin Interv. Cardiol., 3, (3-4), 179-9, 1998; und Anti-inflammatory Stent Coatings. Dexamethasone and Related Compounds, S.H. Park, A.M. Lincoff, Semin. Interv. Cardiol., 3(3-4):191-5, 1998. Auch ein Stent, der mit einer Schicht aus Silizium-Carbid versehen ist, wurde in klinischen Studien bezüglich der Reduktion von Endothelproliferation und Plättchenaktivierung untersucht, vgl. Silicon
25 carbide-coated stents: clinical experience in coronary lesions with increased thrombotic risk, B. Heublein, C. Ozbek, K. Pethig, J. Endovasc. Surg., 5(1), 32-6, 1998; und Silicon-carbide coated coronary stents have low platelet and leukocyte adhesion during platelet activation, S.H. Monnick, A.J. van Boven, H.O. Peels, I. Tigchelaar, P.J. deKam, H.J. Crijns, W. van Oeveren, J. Investig. Med., 47(6),
30 304-10, 1999.

Beschichtete Stents sind auch beschrieben in Coated stents: local pharmacology, V.K. Raman, Edelman E.R., Semin. Interv. Cardiol., 3(3-4), 133-7, 1998; In vivo evaluation of a fluorine-acryl-styrene-urethane-silicone antithrombogenic coating material copolymer for intravascular stents, T. Matsushashi, H. Miyachi, T. Ishibashi, K. Sakamoto, A. Yamadera, Acad. Radiol., 3(7), 581-8, 1996; und Antithrombogenic coating of stents using a biodegradable drug delivery technology, R. Herrmann, G. Schmidmaier, B. Markl, A. Resch, I. Hahnel, A. Stemberger, E. Alt, Thromb. Haemost., 82(1), 51-7, 1999.

Neben diesen Ansätzen wurde auch versucht, Oberflächen mit kovalent modifiziertem Albumin zu überziehen, vgl. The Potent Platelet Inhibitory Effects of S-Nitrosated Albumin Coating of Artificial Surfaces, N. Maalej, R. Albrecht, J. Loscalzo, J.D. Folts, J.A.C.C., 33 (5), 1408-1414, 1999; und Adherence and Proliferation of Endothelial Cells on Surface-Immobilized Albumin-Heparin Conjugate, G.W. Bos, N.M. Scharenborg, A.A. Poot, G.H.M. Engbers, J.G.A. Terlingen, T. Beugeling, W.G. Van Aken, J. Feijen, Tissue Engineering, 4(3), 267 - 279, 1998. In Hydration and preferential molecular adsorption on titanium *in vitro*, K.E. Healy und P. Ducheyne, Biomaterials 1992, Vol. 13, Nr. 8, 553-561, wurde das Verhalten von Titan gegenüber Humanserum mittels Oberflächenspektroskopie untersucht.

Keine der entwickelten Methoden hat bisher im Markt zu einem überzeugenden Produkt geführt. Während das Auftreten von Stentthrombosen durch systemisch verabreichte Medikamente, sogenannte Thrombozytenaggregationshemmer derzeit ausreichend gut behandelt werden kann, gibt es für die Restenose durch Intimahyperplasie noch keine zufriedenstellende Therapie.

Die oben beschriebenen Probleme werden erfindungsgemäß gelöst durch einen Gegenstand, umfassend ein Substrat, das wenigstens teilweise mit mindestens einer Schicht überzogen ist und sich darauf wenigstens teilweise eine Protein-,

- 5 -

Peptid- und/oder Saccharid-haltige Substanz befindet, wobei die an die Substanz direkt angrenzende Schicht wenigstens ein Metall ausgewählt aus Titan, Zirkonium und Hafnium, oder eine Verbindung davon mit einem oder mehreren Nichtmetallen und/oder Halbleitern, oder eine Legierung davon mit einem oder mehreren anderen Metallen enthält und mittels eines Vakuum-Beschichtungsverfahrens aufgebracht worden ist. Außerdem betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Herstellung des Gegenstands, bei dem ein Substrat wenigstens teilweise mit mindestens einer Schicht überzogen wird und anschließend auf das beschichtete Substrat wenigstens teilweise eine Protein-, Peptid- und/oder Saccharid-haltige Substanz aufgebracht wird, wobei die an die Substanz direkt angrenzende Schicht mit wenigstens einem Metall ausgewählt aus Titan, Zirkonium und Hafnium, oder einer Verbindung davon mit einem oder mehreren Nichtmetallen und/oder Halbleitern, oder einer Legierung davon mit einem oder mehreren anderen Metallen bei einer Temperatur von 20 bis 500°C unter Vakuum aufgebracht wird. Daneben bezieht sich die Erfindung auf die Verwendung des Gegenstands zur Implantation, Einführung oder Anbringung in bzw. an den tierischen oder menschlichen Körper oder zum In-Kontakt-Bringen mit tierischem oder menschlichem Blut oder Gewebe oder tierischen oder menschlichen Zellen. Weiterhin umfaßt die Erfindung die Verwendung einer Protein-, Peptid- und/oder Saccharid-haltigen Substanz zum Aufbringen auf eine Schicht wie sie oben definiert wurde. Bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung sind in der nachfolgenden Beschreibung, den Figuren, den Beispielen und den Unteransprüchen beschrieben.

Bei den Figuren zeigen:

25

- Fig. 1 eine schematische Darstellung eines bevorzugten erfindungsgemäßen Gegenstandes;
- Fig. 2 eine grafische Darstellung der in dem nachfolgend beschriebenen Beispiel 1 erhaltenen Ergebnisse; und
- 30 Fig. 3 eine grafische Darstellung der in dem nachfolgend beschriebenen Beispiel 2 erhaltenen Ergebnisse.

Als Gegenstand im Sinne der Erfindung soll jedes Gerät oder jede Vorrichtung verstanden werden, die mit menschlichem oder tierischem Blut oder Gewebe oder mit menschlichen oder tierischen Zellen auch für kurze Zeit in Berührung kommt
5 oder die in den menschlichen oder tierischen Körper implantiert oder länger- oder kurzfristig eingeführt oder angebracht werden kann. Als Beispiele sind zu nennen: Katheter, Sonden, Sensoren, Stents, künstliche Herzklappen, endotracheale Tuben oder Herzschrittmacher.

- 10 Vorzugsweise handelt es sich bei dem Metall der Schicht um Titan. Daneben ist auch eine Verbindung oder Legierung von Titan bevorzugt. Bevorzugte Verbindungen, insbesondere keramische Verbindungen, haben die Formel $MC_xN_yO_z$, wobei $M = Ti, Zr$ und/oder Hf ; $x, y, z = 0$ bis $2,1$; $x+y+z = 0,01$ bis 4 , insbesondere $x+y+z = 0,01$ bis 2 , besonders bevorzugt $x+y+z = 0,05$ bis $1,5$. Dabei liegt ein
15 Verhältnis von Metall zu Stickstoff zu Sauerstoff zu Kohlenstoff von $1:(0 \text{ bis } 2,1) : (0 \text{ bis } 2,1) : (0 \text{ bis } 2,1)$, bevorzugt von $1:(0 \text{ bis } 1,0) : (0 \text{ bis } 2,0) : (0 \text{ bis } 1,0)$, besonders bevorzugt von $1:(0 \text{ bis } 0,8) : (0 \text{ bis } 1,5) : (0 \text{ bis } 0,3)$ vor. Die obigen Verhältnisse beziehen sich auf die Teilchenanzahl bzw. Molverhältnisse. Bevorzugt ist M Titan oder eine Zirkonium-Titan-Legierung. Als zusätzliche Metalle kann
20 die Schicht neben Titan, Zirkonium und/oder Hafnium auch Niob, Tantal, Wolfram, Molybdän oder deren Legierungen enthalten, was sich vorteilhaft auf die Korrosionsbeständigkeit der Schicht auswirkt. Ferner können solche Legierungen günstige mechanische Eigenschaften aufweisen. Bevorzugte Legierungen sind eine Titan-Aluminium-Vanadium-Legierung, Titan-Aluminium-Niob-Legierung,
25 Titan-Aluminium-Eisen-Legierung und eine Titan-Niob-Zirkonium-Legierung. Es besteht auch die Möglichkeit, daß die Schicht Wasserstoff enthält (gelöst oder bevorzugt gebunden). Als Material für die Schicht eignen sich auch Materialien wie sie in DE-C-43 44 258 und DE-A-195 06 188 beschrieben sind. Es besteht auch die Möglichkeit, ein Schichtsystem zu verwenden, bei dem auf eine elekt-
30 risch leitfähige Zwischenschicht aus Titansuboxid, insbesondere der Zusammen-

setzung $\text{TiO}_{1,7}$, eine, vorzugsweise etwa $0,5 \mu\text{m}$ dicke, TiN-Schicht aufgebracht wird. Dieses Schichtsystem ist besonders korrosionsfest.

Die Dicke der Schicht liegt vorzugsweise im Bereich zwischen 0 und $5 \mu\text{m}$, weiter
5 bevorzugt von 50 bis 3000 nm, ganz bevorzugt von 100 bis 1000 nm. Eine solche Schichtdicke sorgt dafür, daß auch Biegungen des jeweiligen Gegenstands ohne Beschädigung toleriert werden können.

Die Schicht hat vorzugsweise einen spezifischen Widerstand im Bereich von 10
10 bis $10^7 \mu\Omega\text{cm}$, bevorzugt von 50 bis 100000 $\mu\Omega\text{cm}$, besonders bevorzugt von 50 bis 10000 $\mu\Omega\text{cm}$. Der spezifische Widerstand kann durch Variation des Anteils an Sauerstoff, Stickstoff und/oder Kohlenstoff vom Fachmann im Rahmen fachüblicher Versuche leicht eingestellt werden. Es wurde gemessen, daß die Blutplättchenadhäsion bei 1000 - 10000 $\mu\Omega\text{cm}$ ein Maximum aufweist. Durch Variation
15 der elektrischen Leitfähigkeit kann der Gegenstand an die elektrophysiologischen Bedingungen angepaßt werden. Durch Ergänzen der Schicht mit den erfindungsgemäß vorgesehenen Protein-, Peptid- und/oder Saccharid-haltigen Substanzen, die ggf. noch durch antibiotisch oder pharmakologisch wirkende Mittel unterstützt werden, kann der Gegenstand an die chemophysikalischen Bedingungen angepaßt
20 werden.

Die Schicht befindet sich als dünne Schicht auf einem Substrat. Geeignete Substrate sind aus einem Metall, wie Molybdän, Silber, Gold, Kupfer, Aluminium, Wolfram, Nickel, Chrom, Zirkonium, Titan, Hafnium, Tantal, Niob, Vanadium,
25 Eisen oder deren Mischungen oder Legierungen, insbesondere Edelstahl oder Nitinol, oder aus einem Polymer, wie Polyester, Polyamid, Polyurethan (PU), Polyethylen (PE), Polytetrafluorethylen (PTFE) oder DACRON®. Bevorzugt besteht das Substrat aus Edelstahl, insbesondere medizinischem Edelstahl, Tantal, Nitinol, Titan, Gold oder Polymer. Die Schicht ist vorzugsweise auf eine raue Substratoberfläche aufgebracht, deren Rauigkeit durch eine statistische Verteilung der
30 Abweichungen vom mittleren Niveau gekennzeichnet ist und die Standardabweichung

chung dieser Verteilung liegt im Bereich von 0,5 - 50000 nm, vorzugsweise von 40 - 1200 nm.

Das Substrat ist wenigstens zum Teil, vorzugsweise vollständig, mit der Schicht überzogen.

5

Als die an die Substanz direkt angrenzende, mittels eines Vakuumbeschichtungsverfahrens aufgebrachte Schicht soll im Sinne der Erfindung auch eine Schicht verstanden werden, die nach ihrem Aufbringen mittels des Vakuumbeschichtungsverfahrens durch Brechen des Vakuums einem natürlichen Alterungsprozeß, vorzugsweise an Luft bzw. Lagern bei Normalbedingungen, unterworfen worden ist.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist eine Zwischenschicht zwischen Substrat und Schicht vorgesehen, die eine höhere Haftfestigkeit bewirkt. Diese Zwischenschicht besteht aus einem Metall, vorzugsweise aus Chrom, Kupfer, Nickel, Molybdän, Tantal, Niob, Silber oder Legierungen dieser Metalle oder einem Halbleiter, z.B. Silicium.

Geeignete Protein-, Peptid- und Saccharid-haltige Substanzen sind Albumin; Fibrinogen; Heparine; Collagen; Blutproteine, z.B. alpha-2-Globulin; Immunglobuline, wie IgG, IgM, IgE, IgA sowie Proteine des Komplementsystems, Zytokine, Interleukine und Interferone; Glykoproteine, wie Ferritin und Lactoferrin; Speichelproteine, wie Lysozym, IgA2, Mucin und Glandulin; und/oder alpha-1-Proteinase-Inhibitoren. Diese Substanzen können sowohl allein als auch im Gemisch davon vorliegen. Die bevorzugten Substanzen sind Albumin, Fibrinogen, Heparin oder ein Gemisch davon. Am meisten bevorzugt ist Albumin, insbesondere ein Gemisch von Albumin mit Fibrinogen, Heparin und/oder einer oder mehrerer der anderen oben genannten Substanzen, insbesondere Albumin mit Fibrinogen. Albumin ist ein gut wasserlöslicher, stark hydratisierter, schwer ausfällbarer Eiweißkörper von elliptischer Gestalt mit einem Molekulargewicht von etwa 660.000, mit einem Anteil an schwefelhaltigen Aminosäuren, einem isoe-

lektrischen Punkt von 4,6 und ampholytischem Verhalten. Besonders geeignete Albumine sind Humanalbumin, Rinderalbumin, Schweinealbumin, Hühneralbumin, Hundealbumin, Albumin von Katze, Affe, Meerschweinchen, Maus, Truthahn, Hamster, Rhesusaffen, oder Schaf. Am meisten bevorzugt ist Humanalbumin.

Auf der Schicht befindet sich wenigstens zum Teil, vorzugsweise vollständig, die Substanz.

- 10 Der erfindungsgemäße Gegenstand reduziert die Fremdkörperreaktion und erlaubt die Erzeugung einer Vielfalt von gewünschten Eigenschaften. So wird zum Beispiel durch Kombination von Albumin, vorzugsweise Humanalbumin, mit einer TiN_xO_y -Schicht eines Stent-Substrates aus medizinischem Edelstahl, wobei x und y wie oben definiert sind, die Restenoserate auf 53% reduziert (vgl. nachfolgendes
- 15 Beispiel 3). Andere Proteine, wie Fibrinogen, reduzieren die Adhäsion von bestimmten Bakterienstämmen (vgl. nachfolgendes Beispiel 2). Dies ist besonders relevant z.B. für diverse Katheter im Bereich des Urogenitaltraktes oder Blutsystems oder für Implantate im Bereich des Respirationstraktes.
- 20 Zur Herstellung des Gegenstands wird die Schicht mittels eines Vakuum-Beschichtungsverfahrens auf das Substrat aufgebracht. Zweckmäßigerweise erfolgt dies mittels PVD (*physical vapour deposition*), CVD (*chemical vapour deposition*), PECVD (*plasma enhanced chemical vapour deposition*) oder Ionenplattieren, insbesondere mittels PVD-Verfahren, wie reaktives Aufdampfen, Sputtern,
- 25 reaktive Plasmaprozesse oder das in DE-A-195 06 188 beschriebene Verfahren. Insbesondere eignet sich zur Aufbringung der Schicht auf das Substrat das folgende Verfahren: Das Substrat wird in einer Vakuumkammer positioniert und auf 20 bis 500°C, bevorzugt auf 100 bis 400°C, besonders bevorzugt 200 bis 350°C erwärmt. Zur Beschichtung wird in der Kammer mittels Verdampfung, vorzugs-
- 30 weise Elektronenstrahlverdampfung, bei einem Vakuum von 10^{-5} bis 10^{-2} mbar, bevorzugt von 10^{-4} bis 10^{-2} mbar, besonders bevorzugt von 10^{-4} bis $5 \cdot 10^{-4}$

- 3-mbar das Metall oder die Legierung, wie oben definiert, verdampft. Sollen Verbindungen aufgebracht werden, werden die entsprechenden Gase, Sauerstoff, Stickstoff und/oder kohlenstoffhaltige Gase wie z.B. Ethin oder Kohlendioxid, in die Vakuumkammer eingeführt. Zur Erzeugung der gewünschten chemischen Zusammensetzung der Verbindung wird hierbei vorzugsweise wie folgt verfahren:

Die chemische Zusammensetzung wird allgemein durch die Parameter bestimmt:

r_M – Verdampfungsrate an Metall M

a_{GM} – Affinität der Gassorte G zum Metall M

- 10 $U_{pl} I_p$ – Spannung und Strom eines eventuell gezündeten Plasmas

T_s – Substrattemperatur

I – Abstand Verdampfer-Substrat

P_{tot} – totaler Gasdruck

und

- 15 P_G – Partialdruck der Gassorte G

wobei letztere Größe durch

f_G – Massenfluß der Gassorte G

L_G – Pumpleistung der Vakuumpumpe für die Gassorte G

- 20 bestimmt wird. Daraus kann der Fachmann für jede Anwendung die Funktion "Prozeß-Zusammensetzung" für jede Vakuumkammer experimentell bestimmen. Hat man es mit einem Metall M und einem Gas G zu tun (z.B. Titan und Sauerstoff), kann der oben beschriebene vieldimensionale Parameterraum zu einem linearen zweidimensionalen Problem reduziert werden. Zum Beispiel gilt für das
- 25 System Titan-Sauerstoff im Parameterbereich

$$r_{Titan} = 0,1 - 10 \text{ mm/s}$$

$$T_s = 20^\circ\text{C} - 500^\circ\text{C}$$

$$I = 20 - 120 \text{ cm}$$

- 30 $P_{tot} = 10^{-5} - 10^{-2} \text{ mbar}$

daß die chemische Zusammensetzung eine lineare Funktion des Sauerstoffflusses f_{O_2} geregelt durch eine Durchfluß-Steuervorrichtung ist. Dieser Zusammenhang kann durch eine parameterisierte Kurvenschar beschrieben werden

5
$$v = 0,0245 \times (f_{O_2} + t) - 0,879$$

wobei v das Teilchenverhältnis von Sauerstoff zu Titan in der Schicht beschreibt, f_{O_2} den entdimensionierten Sauerstofffluß (Sauerstofffluß ohne Dimension) und t einen Kurvenscharparameter, der die Pumpleistung der Kammer und Geometrie beschreibt. In diesem System läßt sich auch der spezifische Widerstand p (ohne
10 Dimension) der Schicht als Funktion der chemischen Zusammensetzung beschreiben:

$$v = 0,357 \ln(p) - 2,1987.$$

15

Fügt man ein zweites Gas hinzu, werden die unterschiedlichen Affinitäten (a_{GM1} , a_{GM2}) zwischen dem Metall M und den beiden Gassorten $G1$ und $G2$ berücksichtigt. Das Verhältnis a_{GM1} zu a_{GM2} bestimmt den Parameterraum, in dem ein linearer Zusammenhang zwischen chemischer Zusammensetzung in der Schicht und
20 den Gasflüssen beider Gassorten gilt. Verwendet man mehr als zwei Gassorten und/oder mehr als eine Metallsorte, kann mittels stochastischer Optimierungsalgorithmen z.B. genetischer Algorithmen, der Parameterraum experimentell untersucht werden, um Parameterraumbereiche zu finden, die zu den gewünschten Eigenschaften führen. Hierbei erfolgt die Einstellung des gewünschten Mengenverhältnisses der Gase vorzugsweise mittels Durchfluß-Steuervorrichtungen, z.B.
25 sog. Massflowcontrolern. In einigen Fällen kann es vorteilhaft sein, ein Plasma zu zünden. Die Abscheidung der Schicht auf dem Substrat erfolgt in einer üblichen Vakuum-Abscheidungsapparatur wie sie dem Fachmann auf diesem Gebiet geläufig ist.

30

Die auf das Substrat aufgetragenen Schichten können kurz nach dem Aufbringen und der Entnahme aus der Vakuumkammer noch chemisch instabil sein und einen Alterungsprozeß aufweisen. So passiviert z.B. Titan zu Titanoxid bzw. TiO_2 , wobei dieser Prozeß Stunden oder gar Tage dauern kann.

5

Auf das beschichtete Substrat wird dann die Protein-, Peptid- und/oder Saccharidhaltige Substanz aufgebracht. In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Substanz gleich oder bald nach dem Aufbringen der Schicht aufgebracht. Vorzugsweise erfolgt dies 1 Minute bis 1 Woche, besonders bevorzugt 1 Minute bis 10 5 Stunden, nach dem Aufbringen der Schicht bzw. der Entnahme des beschichteten Substrats aus der Vakuumkammer. Geeignete Verfahren zum Aufbringen der Substanz in Lösung sind Eintauchen und Besprühen. Die Substanz wird zweckmäßigerweise durch Einbringen des beschichteten Substrats in eine die Substanz enthaltene Lösung aufgebracht. Geeignete Lösungen enthalten 1-70 Gew.-%, vorzugsweise 1 bis 40 Gew.-%, insbesondere 1 bis 35 Gew.-%, der Substanz, bezogen auf 100 Gew.-% Lösung. Bevorzugt wird eine Lösung mit 1-30 Gew.-% Humanalbumin, insbesondere 1 bis 15 Gew.-% Humanalbumin, bezogen auf 100 Gew.-% Lösung, verwendet. Neben der oben beschriebenen Substanz enthält die 15 Lösung Wasser und gegebenenfalls Salze, Elektrolyten und/oder Puffer. Das Albumin kann neben einer Lösung zum Aufbringen auch als Pulver vorliegen, das z.B. durch Hitzeschock oder (Salz-)Kristallisation erzeugt wurde. In diesem Fall wird das Pulver auf der Schicht verteilt und dann der Gegenstand in einer Feuchtkammer gelagert. Es besteht auch die Möglichkeit, daß Teile der Substanz denaturiert sind, was das Anwendungsspektrum erweitert. So kann denaturiertes Fibrinogen die Oberfläche für Blutplättchen-Aggregation inhibieren. Die Substanz 25 kann auch aufgebracht werden, indem man das beschichtete Substrat mit einem Gasgemisch der gewünschten Substanz in Kontakt bringt. Es besteht auch die Möglichkeit, daß der Substanz Depotstoffe, z.B. gerinnungshemmende Substanzen oder Antibiotika beigelegt werden, die dann kontinuierlich freigesetzt werden. 30

- Beim Aufbringen der Substanz durch Eintauchen in eine Lösung wird der Gegenstand dort einige Sekunden bis mehrere Tage bei Temperaturen von -12 bis +20°C, vorzugsweise von 0 bis +7°C, aufbewahrt. Der Gegenstand kann mit der Lösung in den Handel kommen. In dieser Form ist er mindestens 1 Monat haltbar.
- 5 In einer bevorzugten Ausführungsform der Erfindung ist der Gegenstand als Implantat, insbesondere als Stent, ausgebildet.

- Der erfindungsgemäße Gegenstand kann zur Implantation, Einführung oder Anbringung in bzw. an den tierischen oder menschlichen Körper oder zum In-
- 10 Kontakt-Bringen mit menschlichem oder tierischem Blut oder Gewebe oder menschlichen oder tierischen Zellen verwendet werden. Insbesondere wird er zur Implantation, Einführung oder Anbringung in bzw. an den tierischen oder menschlichen Körper verwendet.

- 15 Die Erfindung betrifft auch die Verwendung einer Protein-, Peptid- und/oder Saccharid-haltigen Substanz zum Aufbringen, insbesondere Anlagern oder Ablagern, auf eine Schicht, die wie oben beschrieben definiert ist. Die Substanz ist hierbei wie oben beschrieben definiert. Vorzugsweise ist sie aus Albumin, Fibrinogen und Heparin ausgewählt, wobei Albumin am meisten bevorzugt ist.

20

Figur 1 zeigt schematisch den Aufbau eines erfindungsgemäß bevorzugten Gegenstands mit dem Substrat (3), das mit der PVD-Schicht (2) überzogen ist und auf der sich die Substanz (1) befindet.

- 25 Die Erfindung wird anhand der folgenden Beispiele, die bevorzugte Ausführungsformen der Erfindung darstellen, näher erläutert.

Beispiel 1:

- 30 Medizinischer Stahl 1440 wurde auf einem speziell hergestellten Substrathalter montiert und in eine Vakuumkammer gebracht. Nach Evakuieren der Kammer auf

10⁻⁵ mbar wurde das Substrat auf 400°C erhitzt. Mittels einer Elektronenstrahlkannone wurde Titan mit einer Rate von 0,5 nm/s verdampft. Mittels Massflowcontrollern wurde ein Stickstofffluß von 150 sccm (Standard-cm³) und ein Sauerstofffluß von 35 sccm zugeführt. Der erreichte Prozeßdruck betrug 10⁻³ mbar.

5 Somit wurde eine TiN_{0,95}O_{0,15}-Schicht mit einem spezifischen Widerstand von 1000 µΩ cm aufgebracht. Die Schicht wies eine Dicke von 1 µm auf.

Anschließend wurde die Probe 1 Stunde lang mit 1% Humanalbuminlösung (Gew-%) bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend getrocknet. Nach der

10 Inkubation mit Albumin wurde die Probe mit Phosphatpuffer (PBS) gespült und dabei überschüssiges, nicht gebundenes Albumin abgespült.

Danach wurde die Probe in 5 Rechtecke (l x b x h = 76 x 38 x 0,2 [mm]) geschnitten, von denen 4 Proben 1, 2, 3 bzw. 4 Tage mit filtriertem Humanplasma

15 inkubiert wurden. Die Plättchenadhäsion wurde auf diesen 4 Proben sowie der 5. Probe, die nur mit dem Albumin (und nicht mit dem Humanplasma) inkubiert worden war, gemessen. Hierzu wurde in einer Flußkammer (0,6mm x 38 mm Größe) citrat-anticoaguliertes menschliches Blut über die jeweilige Probe gespült. Die Strömungsgeschwindigkeit betrug 39,67 ml/min. Die Perfusion dauerte je-

20 weils 5 Minuten und erfolgte bei 37°C Temperatur. Nach der Perfusion wurde die jeweilige Probe mit Hepes-NaCl gespült. Als Vergleichsproben dienten unbehandelte Substrate, d.h. medizinischer Stahl, gleicher Größe, die in gleicher Weise wie die Probe mit Humanplasma inkubiert und vermessen wurde.

25 Die so behandelten Proben und Vergleichsproben wurden anschließend fixiert und die Menge an Blutplättchen, die an den Proben haftete, wurde mittels Fluoreszenzmikroskopie quantifiziert und in % der bedeckten Fläche, bezogen auf die Gesamtfläche, angegeben.

30 Die Ergebnisse sind in Figur 2 dargestellt, wobei die Plättchenadhäsion in [%] gegen die Zeit in [Tagen] aufgetragen ist. Aus Figur 2 geht hervor, daß bereits

nach 1 Tag die Plättchenadhäsion auf dem erfindungsgemäßen Gegenstand reduziert ist.

Beispiel 2:

5

Die Oberfläche von medizinischem Stahl 1440 wurde wie in Beispiel 1 in einer Vakuumkammer beschichtet, wobei jedoch Stickstoff und Sauerstoff u.a. in der Menge zugeführt wurden, wie sie in der untenstehenden Tabelle angegeben ist. Der so erreichte Prozeßdruck betrug 10^{-3} mbar. Durch Variation der Prozeßparameter gemäß DE-A-195 06 188 konnten Schichten mit verschiedener Leitfähigkeit hergestellt werden. Die Schichtdicke betrug 10^{-6} m. Auf diese Weise wurden beschichtete Substrate mit den in der folgenden Tabelle angegebenen Widerständen erhalten.

10

| Nr. | Spezifischer Widerstand ($\mu\Omega$ cm) | Zusammensetzung Ti:N:O | Massenfluß N ₂ [sccm] | Massenfluß O ₂ [sccm] |
|-----|--|------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | 6×10^1 | 1 : 0 : 0,01 | - | - |
| 2 | 2×10^3 | 1 : 0,8 : 0,2 | 108 | 44 |
| 3 | 6×10^3 | 1 : 0,12 : 1,32 | 35 | 90 |
| 4 | 5×10^4 | 1 : 0,01 : 1,88 | 5 | 140 |
| 5 | 2×10^5 | 1 : 0 : 2,05 | 2 | 120 |

15

Darüberhinaus wurden noch 5 beschichtete Substrate mit den weiterhin in Fig. 3 dargestellten Widerständen hergestellt. Auf 5 Proben wurde erfindungsgemäß Substanz abgelagert, wobei die Proben 30 min lang in einer Lösung mit gereinigtem Humanfibrinogen (Grad L, KabiVitrum, 33 g Humanfibrinogen/100 ml Kaliumphosphat) inkubiert wurden. Die weiteren 5 Proben wurden nicht mit der Substanz (Fibrinogen) behandelt und dienten als Vergleichsproben.

20

Danach wurden die Proben und Vergleichsproben in einer Flußkammer (Abmessungen: $l \times b \times h = 76 \times 38 \times 0.6$ mm) bezüglich der Adhäsion des Bakterien-

stammes *Staphylococcus epidermidis* 11047 untersucht. Dabei wurde die Bakterienlösung über 5 Stunden mit einer Strömungsgeschwindigkeit von 2 ml/min über die Proben und Vergleichsproben gespült und quantifiziert.

- 5 Die Ergebnisse sind in Figur 3 dargestellt, wobei die totale Adhäsion in [Bakterien/cm²] gegen den spezifischen Widerstand in [$\mu\Omega$ cm] der Probe aufgetragen ist. Wie daraus ersichtlich ist, zeigen die erfindungsgemäßen Proben eine deutlich verringerte Adhäsion.

10 Beispiel 3:

- Handelsübliche Coronarstents wurden wie in Beispiel 1 beschrieben beschichtet, so daß der gleiche spezifische Widerstand und die gleiche Schichtdicke erhalten wurden. Nach Belüften der Vakuumkammer mit Stickstoff wurden die Stents in
15 eine Lösung mit 5 Gew.-% Humanalbumin gebracht und versiegelt.

- Die Stents wurden in die Herzkranzgefäße von 20 Schweinen implantiert. Gleichzeitig wurden in die Schweinen unbehandelte Kontrollstents, d.h. Stents ohne Beschichtung und ohne Substanz, implantiert. Nach sechs Wochen wurde die Intimahyperplasie, die durch die Stents bzw. Kontrollstents ausgelöst wurde, gemessen. Dazu wurden aus der Gefäßwand unmittelbar vor den implantierten Stents
20 und innerhalb der implantierten Stents Proben entnommen und histologische Präparate angefertigt. Die Dicke der Intimaschicht wurde in den histologischen Präparaten gemessen. Der Vergleich zwischen den erfindungsgemäßen Stents und
25 den Kontrollstents zeigte eine Verminderung der Intimahyperplasie um 53% bei den erfindungsgemäßen Stents. Das Ergebnis war mit $p < 0,04$ signifikant.

5

Patentansprüche

1. Gegenstand, umfassend ein Substrat, das wenigstens teilweise mit mindestens einer Schicht überzogen ist und sich darauf wenigstens teilweise eine Protein-, Peptid- und/oder Saccharid-haltige Substanz befindet, wobei die an
10 die Substanz direkt angrenzende Schicht wenigstens ein Metall ausgewählt aus Titan, Zirkonium und Hafnium, oder eine Verbindung davon mit einem oder mehreren Nichtmetallen und/oder Halbleitern, oder eine Legierung davon mit einem oder mehreren anderen Metallen enthält und mittels eines Vakuum-Beschichtungsverfahrens aufgebracht worden ist.
- 15 2. Gegenstand nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem Metall um Titan handelt.
3. Gegenstand nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die
20 Schicht Verbindungen aus wenigstens einem Metall ausgewählt aus Titan, Zirkonium und Hafnium mit wenigstens einem Element ausgewählt aus Stickstoff, Sauerstoff und Kohlenstoff enthält, wobei die Verbindungen die Formel $MC_xN_yO_z$ haben, wobei $M = Ti, Zr$ und/oder Hf ; $x, y, z = 0,0$ bis $2,1$; und $x + y + z = 0,01$ bis 4 .
- 25 4. Gegenstand nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Schicht mittels PVD, PECVD oder CVD aufgebracht worden ist.
5. Gegenstand nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Dicke der Schicht zwischen 0 und $5\text{ }\mu\text{m}$ liegt.
30

- 18 -

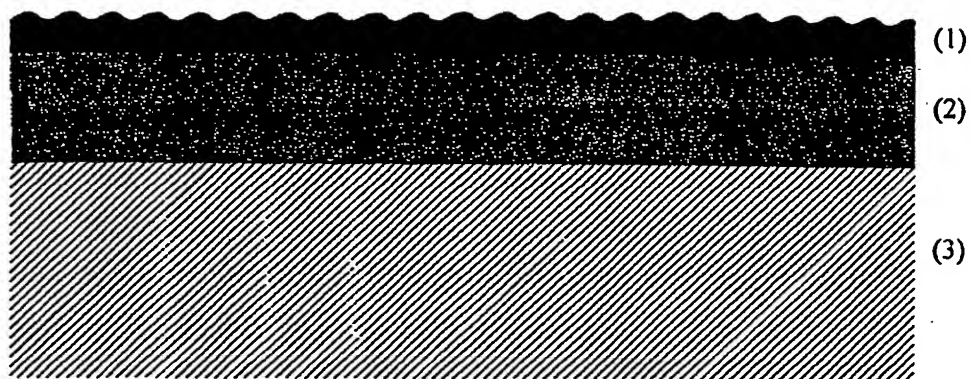
6. Gegenstand nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß der spezifische Widerstand der Schicht zwischen 10 und $10^7 \mu \Omega \text{ cm}$ liegt.
- 5 7. Gegenstand nach einer der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die an die Substanz direkt angrenzende, mittels des Vakuumbeschichtungsverfahrens aufgebrachte Schicht einer Alterung an Luft unterzogen worden ist.
- 10 8. Gegenstand nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die wenigstens eine Substanz aus Albumin, Fibrinogen und Heparin ausgewählt ist.
9. Gegenstand nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Substanz wenigstens Albumin umfaßt.
- 15
10. Gegenstand nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat aus Edelstahl, Tantal, Nitinol, Titan, Gold und/oder Polymer besteht.
- 20
11. Gegenstand nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß er als Stent ausgebildet ist.
12. Verfahren zur Herstellung eines Gegenstandes nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß ein Substrat wenigstens teilweise mit mindestens einer Schicht überzogen wird und anschließend auf das beschichtete Substrat wenigstens teilweise eine Protein-, Peptid- und/oder Saccharid-haltige Substanz aufgebracht wird, wobei die an die Substanz direkt angrenzende Schicht mit wenigstens einem Metall ausgewählt aus Titan, Zirkonium und Hafnium, oder einer Verbindung davon mit
- 25
- 30 einem oder mehreren Nichtmetallen und/oder Halbleitern, oder einer Legie-

... rung davon mit einem oder mehreren anderen Metallen bei einer Temperatur von 20 bis 500°C unter Vakuum aufgebracht wird.

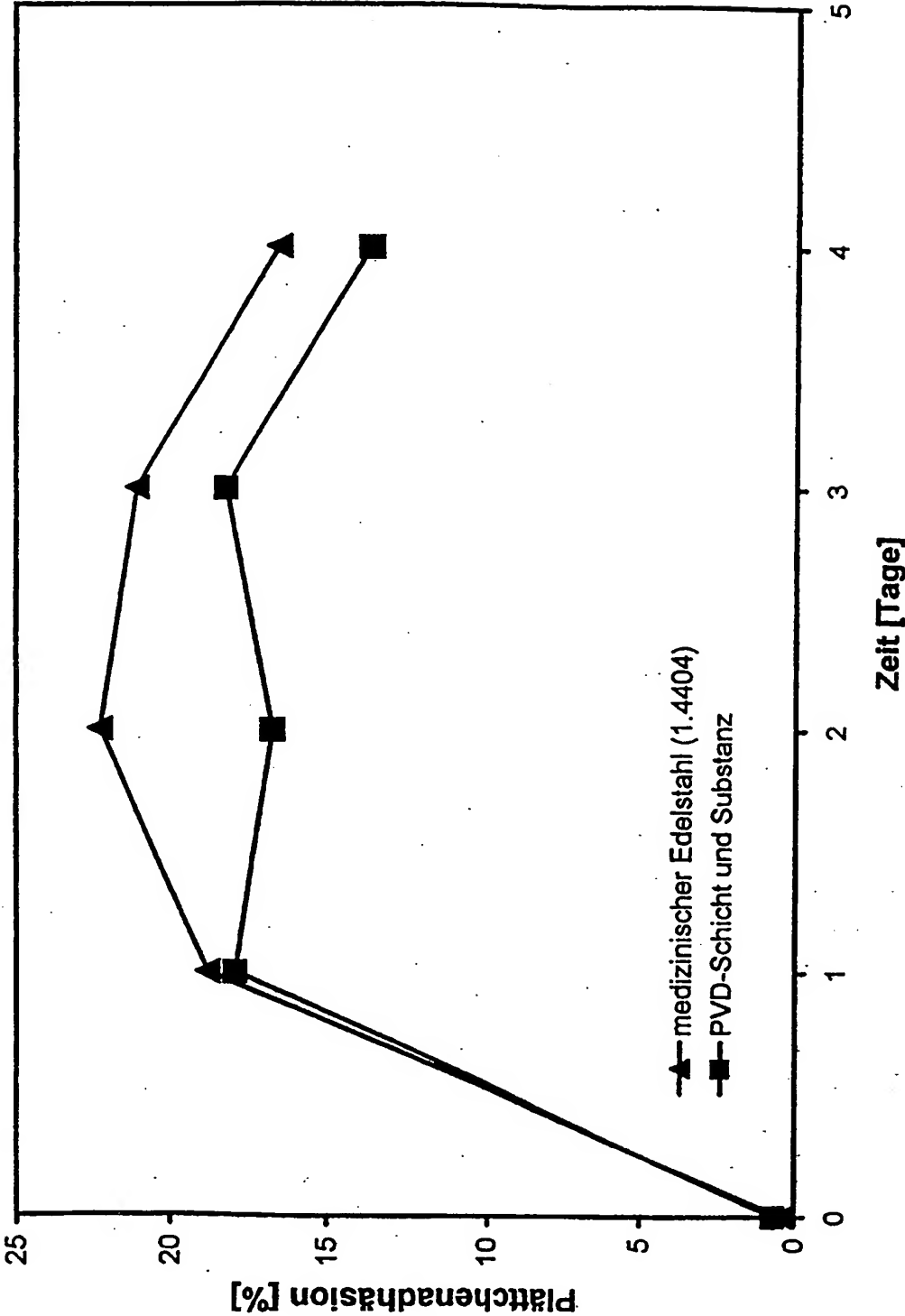
- 5 13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß die Substanz durch Einbringen des beschichteten Substrats in eine die Substanz enthaltende Lösung aufgebracht wird.
- 10 14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Lösung 0,5 bis 40 Gew.-% der Substanz, bezogen auf 100 Gew.-% Lösung, enthält.
- 15 15. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat bei einem Druck von 10^{-5} bis 10^{-2} mbar beschichtet wird.
- 16 16. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 15, gekennzeichnet durch ein Substrat, eine Schicht und eine Substanz wie in einem der Ansprüche 2 bis 10 definiert.
- 20 17. Verwendung eines Gegenstands nach einem der Ansprüche 1 bis 11 zur Implantation, Einführung oder Anbringung in bzw. an den tierischen oder menschlichen Körper, oder zum In-Kontakt-Bringen mit menschlichem oder tierischem Blut oder Gewebe oder menschlichen oder tierischen Zellen.
- 25 18. Verwendung einer Protein-, Peptid- und/oder Saccharid-haltigen Substanz zum Aufbringen auf eine Schicht, die wenigstens ein Metall ausgewählt aus Titan, Zirkonium und Hafnium, oder eine Verbindung davon mit einem oder mehreren Nichtmetallen und/oder Halbleitern, oder eine Legierung davon mit einem oder mehreren anderen Metallen enthält und mittels eines Vakuum-Beschichtungsverfahrens aufgebracht worden ist.
- 30 19. Verwendung nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, daß eine Substanz wie in Anspruch 8 oder 9 definiert verwendet wird.

1/3

Figur 1



Figur 2



Figur 3

